Manual de Uso
VRSTOP OPTIMA ®

Ensayo rápido en casete para la detección del Virus Respiratorio Sincitial en muestras nasofaríngeas

Ref: 5049

1. USO AL QUE SE DESTINA:
La prueba VRSTOP OPTIMA es un ensayo inmunocromatográfico para la detección cualitativa de antígenos de RSV en torundas nasales, muestras de lavados rinofaríngeos y aspirados nasales.

2. INTRODUCCIÓN:
El Virus Respiratorio Sincitial (RSV) es la causa más común de bronquiolitis y neumonías pediátricas y sobre todo en niños con menos de 1 año. La enfermedad aparece frecuentemente con fiebre, catarro de nariz, tos, y a veces respiración dificultosa. Pueden aparecer afecciones severas del tracto respiratorio inferior a cualquier edad, especialmente en edades avanzadas o en casos con compromiso de los sistemas cardiaco, pulmonar, o inmune. RSV se propaga en las secreciones respiratorias a través de contactos estrechos con personas infectadas o contacto con superficies u objetos contaminados.

3. PRINCIPIO DEL ENSAYO:
El VRSTOP OPTIMA, es un ensayo inmunocromatográfico cualitativo en casete para la determinación de *RSV* en muestras nasales. La membrana está pre-tapizada con anticuerpos monoclonales de ratón frente a antígenos virales, en la región de la banda test.
Durante el ensayo, la muestra puede reaccionar con el conjugado coloreado (Anticuerpos monoclonales de ratón anti-*RSV* unidos a microesferas rojas), los cuales están pre-desecados en el dispositivo ensayo. La mezcla entonces, migra a través de la membrana por capilaridad. Como la muestra fluye por de la membrana, las partículas coloreadas migran también. En caso de un resultado positivo, los anticuerpos específicos presentes en la membrana capturarán el conjugado coloreado. La mezcla continúa moviéndose a través de la membrana hasta los anticuerpos inmovilizados situados en la zona de la banda control, donde siempre aparecerá una banda coloreada VERDE. La presencia de esta banda VERDE, sirve como 1) verificación de volumen de muestra suficiente, 2) que se ha obtenido un flujo adecuado y 3) control interno de los reactivos.

4. MATERIALES SUMINISTRADOS:
- 10 Casetes VRSTOP OPTIMA
- 1 Frasco de reactivo B (diluyente de muestras)
- 10 Tubos de ensayo
- 10 Escobillones estériles (rayon)
- 10 Pipetas desechables
- 1 Manual de instrucciones

5. MATERIAL NECESARIO NO PROVISTO:
- Guantes desechables
- Cronómetro avisador

6. RECOGIDA Y PREPARACIÓN DE MUESTRAS:

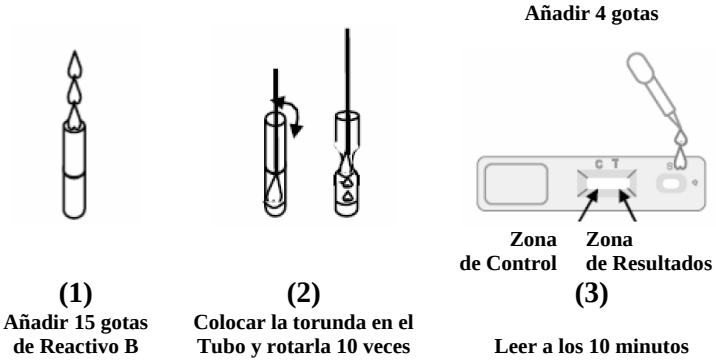
Muestras de Torunda nasal:
Recoger la muestra con un escobillón estéril de una fosa nasal. Insertar la torunda aproximadamente 3 cm en la fosa, rotando contra la pared nasal. Procesar el escobillón lo antes posible después de recogida la muestra.
Las muestras se pueden conservar en nevera (2-4 ºC) durante 8 horas antes de su análisis.

Muestras de Aspirados o Lavados nasales:
<u>En adultos</u>: Emplazar el irrigador en la nariz. Dejar que la solución salina estéril entre en la cavidad nasal (2.5 mL). Ésta, saldrá por el lado opuesto. Inclinar y girar el irrigador de lado a lado y de arriba abajo, dirigiendo el flujo de la solución en todas direcciones de la cavidad nasal. Recoger el lavado en un contenedor de muestras limpio, ladear la cabeza hacia delante y permitir que la solución con moco salga fuera de la fosa al contenedor de muestra. Repetir la recogida de moco de la otra fosa y añadirla al mismo contenedor.

<u>En niños</u>: Utilizar un aspirador o jeringa nasal para introducir la solución salina en una fosa nasal inclinando la cabeza del niño. Aspirar la mezcla de moco-solución salina con el aspirador y transferirla a un contenedor limpio. Repetir la actuación en la otra fosa y transferir el líquido al mismo contenedor de muestras.
Las muestras se deben procesar lo antes posible después de su recogida. Las muestras se pueden conservar en nevera (2-4 ºC) durante 8 horas antes de su análisis.

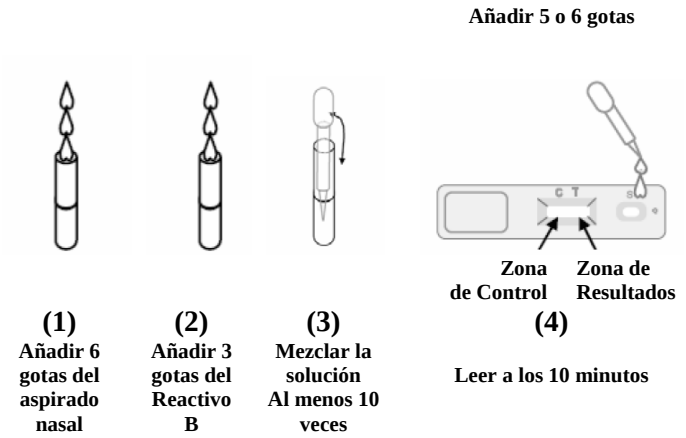
7. PROCEDIMIENTO DEL ENSAYO
Llevar los casetes, escobillones y controles a temperatura ambiente (15-30ºC) previamente a la prueba. No abrir la envoltura hasta estar listos para la realización del ensayo. Llevar solamente a temperatura ambiente el número de dispositivos necesarios para el análisis antes de abrirlos.

<u>- Procedimiento A utilizando muestras de torundas nasales:</u>
1. Añadir **15 gotas (1) de Reactivo B** e inmediatamente colocar el escobillón en el tubo.
2. Mezclar la solución rotando la torunda fuertemente contra el interior del tubo al menos 10 veces. Se obtendrán resultados óptimos si la muestra se extrae vigorosamente en la solución (2). Extraer tanto líquido como sea posible del escobillón, escurriendo en las paredes del tubo hasta que esté seco. Desechar la torunda.
3. Extraer el dispositivo VRSTOP OPTIMA de su envase, en el momento de utilizarlo.
4. Situar el dispositivo en una superficie plana. Utilizar una pipeta y un dispositivo diferente para cada muestra o control. Dispensar **5 o 6 gotas o 200 µL** de la muestra eluída, en la ventana circular marcada con una flecha (3).
5. Leer el resultado a los **10 minutos**.



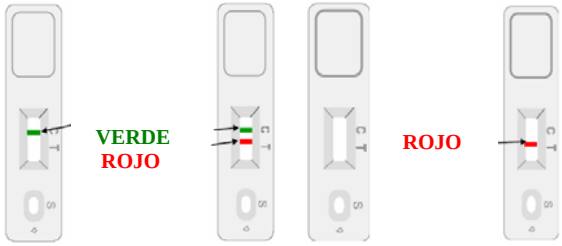
<u>- Procedimiento B utilizando aspirados o lavados nasales:</u>
1. Añadir **6 gotas (450 µl) (1) del aspirado o lavado nasal** con una pipeta y 3 gotas (2) de Reactivo B en un tubo de ensayo.
2. Extraer el dispositivo VRSTOP OPTIMA de su envase, en el momento de utilizarlo. Situar el dispositivo en una superficie plana.
3. Mezclar la solución con la pipeta al menos 10 veces. Se obtienen resultados óptimos cuando la muestra se extrae enérgicamente en la solución (3).
4. Dispensar **5 o 6 gotas o 200 µL** de la muestra eluida, en la ventana circular marcada con una flecha (4).
5. Leer **el resultado a los 10 minutos**.

8. INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS (Ver ilustración inferior)



INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS

(Ver ilustración inferior)



RSV NEGATIVO		RSV POSITIVO	NO VÁLIDO		NO VÁLIDO

RSV NEGATIVO: Solo aparece una banda **"Verde"** en la ventana central en la zona marcada con la letra C (línea Control).

RSV POSITIVO: Además de la banda **"Verde"** de control, aparece una banda **"Roja"** (Línea test *RSV*) en la zona marcada con la letra T (líneas de resultados).

NO VÁLIDO: La ausencia total de banda **"Verde"** de control, invalida la aparición o no de la línea de resultados (**"Roja"**). Un volumen insuficiente de muestra, procedimiento técnico incorrecto o deterioro de los reactivos son los motivos mas habituales del fallo de la línea control. Revisar el procedimiento y repetir el ensayo con un dispositivo nuevo. Si persiste el problema, suspenda el uso del kit y contacte con su distribuidor local.

9. NOTAS A LA INTERPRETACIÓN DE RESULTADOS:

La intensidad de la banda coloreada **"Roja"** en la zona de resultados (T) puede variar dependiendo de la concentración de antígeno en la muestra. Sin embargo, ni la cantidad, ni la tasa de variación de antígenos, se puede determinar con este ensayo cualitativo.

10. CONTROL DE CALIDAD:

El ensayo, incluye controles internos del procedimiento. La aparición de una línea **"Verde"** en la zona control (C) es un control interno. Este confirma la existencia de volumen suficiente de muestra, así como de un correcto procedimiento técnico.

El kit no incluye control externo. Se recomienda el uso de un control, por ejemplo sobre cada nuevo lote o cada nuevo envío. Cada laboratorio, deberá asegurarse una apropiada planificación de realización de controles.

11. LIMITACIONES:

1. El ensayo, suministra un diagnóstico presuntivo de infecciones respiratorias por RSV. Un diagnóstico confirmado de infección, solamente debe realizarse por un médico, después de haber evaluado todos los datos clínicos y de laboratorio.
2. El ensayo VRSTOP OPTIMA debe utilizarse solo con torundas nasales o muestras de lavados y aspirados nasales. El uso de escobillones con tomas de otros sitios o el uso de otras muestras, como saliva, esputos u orina no se ha estudiado. La calidad de los resultados, depende de la calidad de las muestras; Se deben utilizar muestras nasales adecuadas
3. Si la muestra no es adecuada o la concentración antigénica está por debajo de la sensibilidad del ensayo, se pueden obtener resultados falsamente negativos.
4. Si el ensayo no fluyese debido a la existencia de moco, dispensar una gota de diluyente de muestra hasta que se vea que el líquido circula hacia la zona de reacción.

12- CARACTERÍSTICAS DE LA PRUEBA:

Sensibilidad:

Se analizaron diferentes diluciones de extractos de cultivo viral, directamente con diluyente de muestra o en muestras nasales negativas, de acuerdo con las instrucciones del kit.

La detección de RSV, presenta un 95% de concordancia en sensibilidad con otros ensayos rápidos del mercado. El límite de detección del ensayo, es de 50 ng/ml.

Especificidad:

El uso de anticuerpos monoclonales de ratón en la elaboración del ensayo **VRSTOP** OPTIMA, asegura un alto grado de especificidad (99%) en la detección de dichos antígenos, en comparación con otros ensayos rápidos del mercado.

Reactividad Cruzada:

Se realizó una evaluación para determinar la reactividad cruzada del dispositivo VRSTOP OPTIMA, no existiendo reacción con patógenos respiratorios habituales (Virus Influenza A y B, Adenovirus respiratorio), otros organismos ni sustancias presentes ocasionalmente en muestras nasofaríngeas.

13. ALMACENAJE Y ESTABILIDAD:

Almacenar en su envase en la bolsa sellada entre 2 y 30ºC. El ensayo es estable hasta la fecha de caducidad impresa en la bolsita sellada. El test debe permanecer en la bolsa hasta su uso. El dispositivo, debe utilizarse dentro de las 2 horas siguientes a la apertura de su envase.

No congelar.

El kit, se puede conservar y transportar hasta a 45ºC durante 5 días, sin que se alteren sus características ni su vida media.

14. PRECAUCIONES:

- Solamente para uso profesional de diagnóstico *in vitro*.
- No utilizar después de la fecha de caducidad.
- Todas las muestras, se deben considerar potencialmente peligrosas y manipular igualmente como portadoras de agentes infecciosos.
- Los dispositivos y restos del ensayo, se deben desechar en un contenedor de bioseguridad apropiado después de la prueba.

15. BIBLIOGRAFÍA:

1. ANN R. FALSEY and EDWARD E. WALSH. "Respiratory Syncytial Infection in Adults", *Clinical Microbiology Reviews*, July 2000, Vol. 13, No.3, p. 371-384.

2. DIANE C. HALSTEAD, SANDRA TODD, and GALE FRITCH; "Evaluation of Five Methods for Respiratory Syncytial Virus Detection" Journal of Clinical Microbiology, May 1990, Vol. 28, No. 5; p. 1021-1025.

	Atención, ver manual de uso	Σ	Pruebas por kit
IVD	Solo para Diagnóstico *In vitro*		Caducidad
4°C 30°	Conservar entre 2 y 30ºC	LOT	Número de Lote
	Fabricante	2	No reutilizar
REF	Número de referencia en catálogo		

Directive 98/79/CE Version 1 –07/09/2012

Fabriquant

ALLDIAG
8, rue Ettoré Bugatti – CS 28006
67038 STRASBOURG Cedex - FRANCE
Tél. : 03 88 78 80 88 - Fax : 03 88 78 76 78
www.alldiag.com – info@alldiag.com